

AValiação DO DESENVOLVIMENTO DE PLANTAS DE MILHO (*Zea mays L.*) APÓS COLONIZAÇÃO PELO FUNGO ENDOFÍTICO *Fusarium verticillioides*

Ulisses de Deus Gomes*
Ravelly Casarotti Orlandelli**
Mariana Sanches Santos***
Julio Cesar Polonio****
João Alencar Pamphile*****
Celso João Rubin Filho*****

RESUMO: Fungos endofíticos habitam o interior de plantas sem causar-lhes danos. Os benefícios da interação endófito–planta incluem a promoção do crescimento vegetal e defesa da planta contra insetos–pragas e outros patógenos. Contudo, alguns endófitos podem atuar como patógenos latentes, ocasionando mudanças fisiológicas e sintomas de doenças no hospedeiro. Assim, este estudo avaliou o desenvolvimento de plantas de milho colonizadas (tratamento) e não–colonizadas (controle) com *Fusarium verticillioides*, um endófito frequente em milho. Comparando–se as alterações morfológicas e fisiológicas possivelmente ocasionadas pela interação endófito–hospedeiro. Como resultados, com exceção do peso seco da parte aérea, os dados morfológicos (número de folhas; comprimento total, da parte aérea e da raiz; peso seco total e da raiz) foram menores para o tratamento. Os parâmetros fisiológicos analisados (concentração de clorofila *a*, *b* e total) mostraram o mesmo padrão de influência do endófito, já que clorofilas *b* e total foram menores no tratamento, enquanto a concentração de clorofila *a* foi maior. Com o presente estudo foi possível concluir que houve uma interferência do endófito *F. verticillioides* sobre o desenvolvimento das plantas de milho, sugerindo que a diminuição da clorofila *b* possa ser vantajosa para a planta em condições de estresse.

PALAVRAS-CHAVE: Clorofila; Crescimento Vegetal; Interação Endófito–Planta.

EVALUATION OF THE DEVELOPMENT OF MAIZE PLANTS (*Zea mays L.*) AFTER COLONIZATION BY ENDOPHYTE FUNGUS *Fusarium verticillioides*

ABSTRACT: Endophyte fungi inhabit the inside of plants without causing any damage. Benefits from endophyte–plant interactivities include vegetal growth and the plant’s defense against insects and other pathogens. Some endophytes, however, may act as latent pathogens which cause physiological changes and disease symptoms in the host. Current analysis evaluates the development of maize plants colonizer (treatment) and non–colonized (control) with the frequently found endophyte *Fusarium verticillioides* and compares morphological and physiological alterations possibly caused by the endophyte–host interactivities. Excepting the dry weight of the aerial part, morphological data (number of leaves, total length of the aerial section and root, total dry weight and root weight) were lower in treatment. Analyzed physiological parameters (concentration of chlorophyll *a*, *b* and total) showed the same influence pattern of the endophyte since chlorophyll *b* and total were lower in treatment, whereas the concentration of chlorophyll *b* was higher. Results show that there was an interference of the endophyte *F. verticillioides* on the development of maize plants and suggest that decrease of chlorophyll *b* may be advantageous for plants in stress conditions.

KEYWORDS: Chlorophyll; Vegetal Growth; Endophyte–Plant Interaction.

* Graduado em Ciências Biológicas. Especialista em Prática Docente com Ênfase no Ensino de Ciências Biológicas pela Universidade Estadual de Maringá – UEM

** Graduada em Ciências Biológicas. Mestre e doutoranda em Biologia Comparada pela Universidade Estadual de Maringá – UEM

*** Discente do curso de graduação em Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá – UEM

**** Discente do curso de graduação em Tecnologia em Biotecnologia da Universidade Estadual de Maringá – UEM.

***** Doutorado Sandwiche – Université de Paris XI (Paris–Sud) e em Genética e Melhoramento de Plantas pela Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz; Docente na Universidade Estadual de Maringá – UEM. E–mail: prof.pamphile@gmail.com

***** Doutor em Ecologia e Recursos Naturais pela Universidade Federal de São Carlos – UFSC; Docente do Departamento de Biologia, Universidade Estadual de Maringá – UEM.

INTRODUÇÃO

O gênero *Fusarium* é caracterizado por fungos de rápido crescimento, com coloração pálida ou colorida com um micélio aéreo e difuso ou com esporulação esporodóquia. Muitas espécies deste gênero são encontradas no solo, com distribuição cosmopolita, e ativos na decomposição de substratos celulósicos das plantas. Outras espécies são representadas por parasitas (DOMSCH; GAMS; ANDERSON, 1980).

A espécie *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg (= *F. moniliforme* Sheldon) é encontrada frequentemente em sementes de milho (*Zea mays* L.), sendo uma importante fonte de inóculo no campo (PAMPHILE; ROCHA; AZEVEDO, 2004). Estes fungos estão associados a plantas de milho sintomáticas, onde são agentes causais primários de várias doenças como podridão das raízes, colmos e espigas e morte de plântulas, ocasionando reduções na produtividade e qualidade dos grãos (MUNKVOLD, 2003). Estão também, associados a plantas assintomáticas, sendo considerados endófitos ou endofíticos (PAMPHILE; ROCHA; AZEVEDO, 2004). Pamphile e Azevedo (2002) relatam que fungos endofíticos deste gênero possuem grande ocorrência em culturas de milho no Brasil, apresentando alta especificidade em nível genotípico.

Microrganismos endofíticos são fungos e bactérias que ocorrem no interior das plantas, especialmente em órgãos e tecidos vegetais como folhas, ramos e raízes, e não produzem qualquer prejuízo nas plantas hospedeiras (PEIXOTO NETO; AZEVEDO; ARAÚJO, 2002). Os efeitos de endófitos nas plantas hospedeiras são os mais diferenciados: podem agir como defensores contra herbívoros, insetos-praga e microrganismos patogênicos, promotores de crescimento e podem aumentar a tolerância da planta a condições de estresse. Além disso, estudos relatam seu potencial para a inibição de bactérias patogênicas a humanos, para produção de fármacos e enzimas (PEIXOTO NETO; AZEVEDO; ARAÚJO, 2002; TARGA et al., 2011; GARCIA et al., 2012; ORLANDELLI et al., 2012; RHODEN et al., 2012; SPECIAN et al., 2012; FLORES et al., 2013).

A distinção entre fungos endofíticos, epifíticos (que vivem na superfície dos vegetais) e patogênicos (que causam danos aos vegetais) é puramente didática, sem que haja um claro limite entre esses grupos (AZEVEDO, 1999). É possível que a interação entre endófito e planta seja caracterizada por um equilíbrio entre a defesa da planta hospedeira e o poder de virulência do fungo. Em caso de desequilíbrio, pode-se desenvolver um aumento da virulência do fungo ou uma diminuição na capacidade de defesa do hospedeiro (SCHULZ; BOYLE, 2005). Portanto, alguns estudos relatam que alguns endofíticos podem agir como patógenos latentes no interior da planta (BROWN; HYDE; GUEST, 1998), causando sintomas de doenças ou mudanças na fisiologia do hospedeiro (ROMERO; CARRIÓN; RICO-GRAY, 2001).

O presente estudo teve como objetivo avaliar o desenvolvimento de plantas de milho infectadas e não infectadas com o fungo endofítico *F. verticillioides*, comparando as alterações morfológicas e fisiológicas possivelmente ocasionadas pela interação endófito-hospedeiro.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 SOLUÇÃO DE CONÍDIOS DE *Fusarium verticillioides*

O fungo endofítico *F. verticillioides* (linhagem 25), foi isolado de sementes de milho por Pamphile e Azevedo (2002) e pertence à coleção de fungos do Laboratório de Biotecnologia Microbiana da Universidade Estadual de Maringá (UEM).

O meio Batata Dextrose Ágar (BDA) foi preparado segundo Smith e Onions (1983) com as modificações de Pamphile, Rocha e Azevedo (2004). Após crescimento prévio em placas de Petri com BDA por 7 dias a 28° C para a obtenção de colônias jovens, os conídios foram coletados e ressuspensos em 2 mL de solução aquosa de Tween 80 a 0,01%. A concentração da solução de conídios foi contada em câmara de Neubauer. Após a contagem, foram feitas duas diluições sucessivas de 0,1 mL da solução de esporos em 10 mL de água destilada estéril, gerando uma solução de esporos com concentração de $1,6 \times 10^7$ esporos/mL.

2.2 DESINFECÇÃO, INOCULAÇÃO E CULTIVO DAS SEMENTES DE MILHO

Foram utilizadas sementes de milho da linhagem 4045 (Bayer), um híbrido de alta produtividade.

A desinfecção, inoculação e o cultivo das sementes foram realizados segundo a metodologia de Rodrigues (1996) modificada. Após lavagem inicial em água corrente as sementes foram mantidas sob agitação durante 30 min em solução aquosa de Tween 80 0,01% (com uma troca da solução após 15 min). Em seguida, a desinfecção foi realizada, em fluxo laminar, por imersão das sementes em álcool 70% durante 1 min, solução de hipoclorito de sódio 3% por 25 min e álcool 70% durante 30 s. Após a esterilização, as sementes foram lavadas em água destilada autoclavada e transferidas para placas de Petri com papéis filtros autoclavados e embebidos em água destilada autoclavada.

As sementes foram incubadas em estufa a 26° C durante 32 h. Para os tratamentos, as sementes em início de germinação foram assepticamente imersas na solução de conídios de *F. verticillioides* e imediatamente transferidas para frascos contendo meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962). Nos controles não houve inoculação de conídios. Os ensaios foram feitos em cinco repetições para tratamentos e controles.

Após 10 dias em câmara de incubação em estufa do tipo B.O.D. (demanda bioquímica de oxigênio) a 26° C com fotoperíodo de 13 h horas, as plantas foram coletadas, lavadas em água morna e analisadas quanto a parâmetros biométricos e fisiológicos.

2.3 PARÂMETROS BIOMÉTRICOS

Foram analisados os seguintes parâmetros:

- Número de folhas: somatório das folhas de cada exemplar;
- Altura das plantas: medida (em cm) da distância do colo da planta (primeiro nó) até o ápice foliar da folha mais desenvolvida no ápice da planta.

- Comprimento das raízes: medida (em cm), utilizando todas as raízes, da distância desde o colo da planta até o ápice do sistema radicular;
- Matéria orgânica seca: partes aéreas, cortadas no primeiro nó, e raízes permaneceram em câmara de secagem por 72 h a 70° C e em seguida foram pesadas.

Diferenças nos parâmetros biométricos dos tratamentos e controles foram analisadas por meio de análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste t student com auxílio do programa estatístico SISVAR 5.3 (FERREIRA, 2010).

2.4 PARÂMETROS FISIOLÓGICOS

Para a determinação da concentração de clorofila (mg/g), 1 g de matéria fresca de cada planta foi coletada, macerada e diluída em 10 mL de acetona 80%. A solução foi centrifugada a 3000 g durante 20 min e o sobrenadante foi analisado em espectrofotômetro a 645, 652 e 663 nm. Os cálculos de miligrama de clorofila por grama de peso fresco de tecido foliar basearam-se nas equações (1), (2) e (3) a seguir (WHITHAM; BLAYDES; DEVLIN, 1971):

$$(1) \text{ Clorofila } a = \frac{(12,7 \times A_{663} - 2,69 \times A_{645}) V}{1000W} \quad (1)$$

$$(2) \text{ Clorofila } b = \frac{(22,9 \times A_{654} - 4,68 \times A_{663}) V}{1000W} \quad (2)$$

$$(3) \text{ Clorofila total} = \frac{A_{652} \times 1000 \times V}{34,5 \times 1000W} \quad (3)$$

Onde:

A = Absorbância no comprimento de onda indicado, V = Volume final do extrato clorofila - acetona e W = Matéria fresca em gramas do material vegetal utilizado.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A interação entre o fungo endofítico *F. verticillioides* e a planta hospedeira *Zea mays* já foi previamente estudada por Zayats, Orlandelli e Pamphile (2011), com enfoque na comparação da colonização e desenvolvimento de uma linhagem selvagem e uma linhagem transformante de *F. verticillioides* após re-inoculação em milho. Os autores observaram maior colonização do endófito selvagem (linhagem 25) em folhas, enquanto a colonização pela linhagem transformante (A3) foi maior nas raízes.

O presente estudo teve por objetivo abordar outros aspectos desta interação, enfatizando o desenvolvimento de plantas de milho a partir do cultivo de sementes previamente desinfectadas e inoculadas (ou não-inoculadas) com a linhagem selvagem 25 de *F. verticillioides*. Os resultados obtidos para os parâmetros biométricos estão detalhados na Tabela 1.

Tabela 1 Valores (média±erro padrão) dos parâmetros biométricos obtidos para plantas de milho não-inoculadas (controle) e inoculadas (tratamento) com o fungo endofítico *F. verticillioides*.

Amostras	Nº de folhas	Comprimento (cm)			Peso seco (g)		
		Parte aérea	Raiz	Total	Parte aérea	Raiz	Total
Controle	3,8±0,148 ^a	39,74±1,522a	23,32±3,665a	63,06±4,427a	0,055±0,0058b	0,011±0,0024a	0,0942±0,0068a
Tratamento	3,0±0,14b	32,20±1,522b	16,58±3,665b	48,78±4,427a	0,083±0,0058a	0,009±0,0024a	0,0646±0,0068b

*Médias de cinco repetições. Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste t, a 5% de probabilidade.

Considerando todos os parâmetros biométricos analisados, é possível que, embora o fungo seja endofítico, de alguma forma este provavelmente interferiu no desenvolvimento da planta em condições controladas, uma vez que, com exceção do peso seco da parte aérea, os valores para os outros parâmetros foram maiores no controle, com diferenças estatisticamente significativas para o número de folhas, e medidas de parte aérea e raiz e peso seco total. Há a possibilidade de que esta interferência tenha sido ocasionada pela ação de toxinas produzidas no metabolismo secundário do fungo, as quais prejudicaram o desenvolvimento da planta.

Linhagens patogênicas de *F. verticillioides* produzem micotoxinas como beauvericinas, eniatinas, fumonisinas, fusaproliferinas, ácidos fusáricos, fusarinas, moniliforminas, tricotecenos e zealareninas (DESJARDINS; PROCTOR, 2007). Considerando que embora haja a distinção entre fungos endofíticos e patogênicos, não há total diferença entre esses grupos, o que reforça a possibilidade de que toxinas possam ter sido produzidas durante o desenvolvimento das sementes de milho colonizadas pelo endófito *F. verticillioides*.

Uma vez que a colonização do hospedeiro é principalmente intercelular, os fungos endofíticos dependem dos nutrientes do apoplasto hospedeiro para seu crescimento (SCHULZ; BOYLE, 2005). Assim, outra hipótese é que o endófito *F. verticillioides* tenha obtido nutrientes diretamente do hospedeiro, diminuindo a disponibilidade destes para a planta, o que resultou em uma baixa nutricional assintomática com a consequente redução do desenvolvimento das plantas de milho.

Ao contrário deste estudo, é mais comum a ocorrência de fungos endofíticos que alteram positivamente o crescimento do vegetal hospedeiro. O estudo de Hamayun et al. (2010) demonstrou que fungos endofíticos do gênero *Phoma* alteram positivamente o crescimento de pepino (*Cucumis sativus* L.). O isolado *Phoma* sp. GAH7, que se destacou por conter concentrações mais elevadas de giberelina (fitormônio) fisiologicamente ativa, promoveu o comprimento máximo da parte aérea (11,3 cm) em relação ao controle (7,8 cm).

O recente estudo de Rinu, Sati e Pandey (2013) indicou que o fungo endofítico *Trichoderma*

gamsii apresentou resultados positivos para a solubilização de fosfato, atividade de quitinase e produção de amônia e ácido salicílico. Bioensaios em sua planta hospedeira lentilha (*Lens esculenta*), soja (*Glycine max*), trigo (*Triticum aestivum*) e milho resultaram em medidas e pesos mais elevados para as partes aéreas e raízes das quatro plantas inoculadas com este fungo endofítico, comprovando seu potencial para a promoção do crescimento vegetal.

Os resultados obtidos para as concentrações de clorofila *a*, *b* e total (parâmetros fisiológicos) estão detalhados na Tabela 2.

Dados como este também já foram relatados por Pinto et al. (2000), durante a comparação da taxa fotossintética de plantas de banana (*Musa acuminata*) e milho não-inoculadas e inoculadas com os fungos endofíticos *Colletotricum musae* e *Fusarium moniliforme*, respectivamente. Medidas de clorofila total revelaram uma redução pouco significativa nas plantas de banana colonizadas pelo endófito, o que os autores acreditaram ser um possível resultado de um composto tóxico produzido por *C. musae*, que desacoplou a cadeia transportadora de elétrons, já que embora a redução da clorofila não tenha sido significativa, a capacidade de transporte de elétrons diminuiu.

Tabela 2 Parâmetros fisiológicos* (concentrações de clorofila) obtidos para plantas de milho não-inoculadas (controles) e inoculadas (tratamentos) com o fungo endofítico *F. verticillioides*.

Amostras	Absorbância (nm) em cada comprimentos de onda			Concentração de clorofila (mg/g)		
	645 nm	652 nm	663nm	<i>a</i>	<i>b</i>	total
Controle	0,507	0,779	0,366	0,033	0,099	0,023
Tratamento	0,371	0,566	1,0106	0,118	0,038	0,016

*Considerando as médias de cinco repetições.

As clorofilas são sintetizadas e degradadas constantemente. Tal processo pode ser influenciado por fatores tanto externos quanto internos à planta. Os nutrientes minerais são um dos fatores externos que se destacam, pois integram a estrutura molecular das plantas e atuam em etapas das reações de síntese das clorofilas (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Neste estudo, o teor de clorofila *a* foi maior para o tratamento, enquanto concentrações de clorofila *b* e total foram menores. Os dados reforçam as hipóteses anteriores, já que foram obtidas grandes diferenças, sobretudo, para clorofila *b*. A menor concentração da clorofila *b* no tratamento pode ter sido uma resposta fisiológica ao déficit nutricional apresentado pelas plantas colonizadas por *F. verticillioides*.

A clorofila *b* permite maior eficiência de absorção de luz menos intensa (WHATLEY; WHATLEY, 1982) e ampliação do espectro de ação da fotossíntese (MITCHELL, 1979). Com a degradação da clorofila *b*, tem-se um aumento relativo da clorofila *a* (ENGEL; POGGIANI, 1991).

Similarmente a este presente estudo com plantas de milho, onde foram observadas reduções significativas nos valores de clorofila *b* e total para plantas infectadas com *F. verticillioides*, Pinto et al. (2000) encontraram uma redução de 50% no teor de clorofila nas plantas de milho colonizadas por *F. moliniforme* (= *F. verticillioides*), um ligeiro aumento na taxa respiratória no escuro e uma grande redução na assimilação de carbono. Os autores concluíram que nas plantas de milho, a diminuição da clorofila causou uma grande redução dos componentes transportadores de elétrons nos tilacóides.

Ao contrário, um recente estudo conduzido por Khan et al. (2012) revelou um aumento significativo no crescimento da parte aérea, no teor de clorofila, na biomassa e na área foliar de plantas de *Capsicum annum* (pimentão) colonizadas pela linhagem LK4 do fungo endofítico *Chaetomium globosum* em relação a plantas livre do fungo por meio da produção de giberelinas e ácido indol-acético, indicando que a interação endófito-planta, neste caso, teve impactos positivos no crescimento das plantas.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados indicam que houve interferência do endófito *F. verticillioides* sobre o desenvolvimento das plantas de milho, Os dados sugerem que a diminuição da concentração de clorofila *b* possa ser vantajosa para a planta em situações de estresse.

REFERÊNCIAS

- AZEVEDO, J. L. Botânica: uma ciência básica ou aplicada? **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 22, n. 2 (suplemento), p. 225–229, out. 1999.
- BROWN, K. B.; HYDE, K. D.; GUEST, D. I. Preliminary studies on endophytic fungal communities of *Musa acuminata* species complex in Hong Kong and Australia. **Fungal Diversity**, Chiang Mai, v. 1, p. 27–51, out. 1998.
- DESJARDINS, A. E.; PROCTOR, R. H. Molecular biology of *Fusarium* mycotoxins. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 119, n. 1–2, p. 47–50, out. 2007.
- DOMSCH, K. H.; GAMS, W.; ANDERSON, T. H. **Compendium of soil fungi**, New York: Academic Press, 1980. 859 p.
- ENGEL, V. L.; POGGIANI, F. Estudo da concentração de clorofilas nas folhas e seu espectro de absorção em função do sombreamento em mudas de quatro espécies florestais nativas. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 3, n. 1, p. 39–45, 1991.
- FERREIRA, D. F. **SISVAR** – Sistema de análise de variância. Versão 5.3. Lavras: UFLA, 2010.
- FLORES, A. C. F.; PAMPHILE, J. A.; SARRAGIOTTO, M. H.; CLEMENTE, E. Production of 3–nitropropionic acid by endophytic fungus *Phomopsis longicolla* isolated from *Trichilia elegans* A. JUSS ssp. *elegans* and evaluation of biological activity. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Netherlands, v. 29, n. 5, p. 923–932, maio 2013.
- GARCIA, A.; RHODEN, S. A.; BERNARDI–WENZEL, J.; ORLANDELLI, R. C.; AZEVEDO, J. L.; PAMPHILE, J. A. Antimicrobial activity of crude extracts of endophytic fungi isolated from medicinal plant *Sapindus saponaria* L. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, Gwalior, v. 2, n. 10, p. 35–40, out. 2012.
- HAMAYUN, M.; KHAN, S. A.; KHAN, A. L.; TANG, D–S.; HUSSAIN, J.; AHMAD, B.; ANWAR, T.; LEE, I–J. Growth promotion of cucumber by pure cultures of gibberellin–producing *Phoma* sp. GAH7. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Netherlands, v. 26, n. 5, p. 889–894, maio 2010.
- KHAN, A. L.; SHINWARI, Z. K.; KIM, Y.–H.; WAQAS, M.; HAMAYUN, M.; KAMRAN, M.; LEE, I.–J. Role of endophyte *Chaetomium globosum* LK4 in growth of *Capsicum annuum* by production of gibberellins and indole acetic acid. **Pakistan Journal of Botany**, Pakistan, v. 44, n. 5, p. 1601–1607, out. 2012.
- MITCHELL, D. T. Carbon dioxide exchange by infected first leaf tissues susceptible to wheat stem rust. **Transactions of the British Mycological Society**, London, v. 72, n. 1, p. 63–68, fev. 1979.
- MUNKVOLD, G. P. Epidemiology of *Fusarium* diseases and their mycotoxins in maize ears. **European Journal of Plant Pathology**, London, v. 109, n. 7, p. 705–713, set. 2003.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio–assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Sweden, v. 15, p. 473–497, jul. 1962.
- ORLANDELLI, R. C.; ALBERTO, R. N.; ALMEIDA, T. T.; AZEVEDO, J. L.; PAMPHILE, J. A. *In vitro* antibacterial activity of crude extracts produced by endophytic fungi isolated from *Piper hispidum* Sw J. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, Gwalior, v. 2, n. 10, p. 137–141, out. 2012.
- PAMPHILE, J. A.; AZEVEDO, J. L. Molecular characterization of endophytic strains of *Fusarium verticillioi-*

- des (= *Fusarium moniliforme*) from maize (*Zea mays* L). **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, Netherlands, v. 18, n. 5, p. 391–396, jul. 2002.
- PAMPHILE, J. A.; ROCHA C. L. M. S. C.; AZEVEDO J. L. Co-transformation of a tropical maize endophytic isolate of *Fusarium verticillioides* (synonym *F. moniliforme*) with *gusA* and *nia* genes. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 27, n. 2, p. 253–258, 2004.
- PEIXOTO NETO, P. A. S.; AZEVEDO, J. L.; ARAÚJO, W. L. Microrganismos endofíticos: Interação com as plantas e potencial biotecnológico. **Biociência, Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, n. 29, p. 62–76, nov./dez. 2002.
- PINTO, L. S. R. C.; AZEVEDO, J. L.; PEREIRA, J. O.; VIEIRA, M. L. C.; LABATE, C. A. Symptomless infection of banana and maize by endophytic fungi impairs photosynthetic efficiency. **New Phytologist**, Lancaster, v. 147, n. 3, p. 413–639, set. 2000.
- RHODEN, S. A.; GARCIA, A.; BONGIORNO, V. A.; AZEVEDO, J. L.; PAMPHILE, J. A. Antimicrobial activity of crude extracts of endophytic fungi isolated from medicinal plant *Trichilia elegans* A. Juss. Antimicrobial activity of crude extracts of endophytic fungi isolated from medicinal plant *Trichilia elegans* A. Juss. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, Gwalior, v. 2, n. 8, p. 57–59, out. 2012.
- RINU, K.; SATI, P.; PANDEY, A. *Trichoderma gamsii* (NFC-CI 2177): A newly isolated endophytic, psychrotolerant, plant growth promoting, and antagonistic fungal strain. **Journal of Basic Microbiology**, Berlin, DOI: 10.1002/jobm.201200579. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jobm.201200579/pdf>>. Acesso em: 25 out. 2013.
- RODRIGUES, L. S. **Efeito de fungos endofíticos no metabolismo fotossintético de plantas de banana (*Musa cavendish*) e milho (*Zea mays* L.)**. 1996. 102 f. Dissertação (Mestrado em) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. Piracicaba, 1996.
- ROMERO, A.; CARRIÓN, G.; RICO–GRAY, V. Fungal latent pathogens and endophytes from leaves of *Parthenium hysterophorus* (Asteraceae). **Fungal Diversity**, Chiang Mai, v. 7, p. 81–87, jun. 2001.
- SCHULZ, B.; BOYLE, C. The endophytic continuum. **Mycological Research**, v. 109, n. 6, p. 661–686, jun. 2005.
- SMITH, D.; ONIONS, A. H. S. **The preservation and maintenance of living fungi**. Great Britain: Commonwealth Mycological Institute, 1983. 51 p.
- SPECIAN, V.; SARRAGIOTTO, M. H.; PAMPHILE, J. A.; CLEMENTE, E. Chemical characterization of bioactive compounds from the endophytic fungus *Diaporthe helianthi* isolated from *Luehea divaricata*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 43, n. 3, São Paulo, p. 1174–1182, jul./set. 2012.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.
- TARGA, S. E. M.; ORLANDELLI, R. C.; BERNARDI–WENZEL, J.; CONTE, H., PAMPHILE, J. A. Influence of crude extracts of endophytes from *Luehea divaricata* (Malvales; Tiliaceae) on the *in vitro* development of *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera; Crambidae) larvae. **SaBios: Revista de Saúde e Biologia**, Campo Mourão, v. 6, n. 3, p. 01–07, set./dez., 2011.
- WHATLEY, J. M.; WHATLEY, F. R. **A luz e a vida das plantas**. São Paulo: EPU– EDUSP, 1982. 101 p.
- WHITHAM, F. H.; BLAYDES, D. F.; DEVLIN, R. M. **Experiments in plant physiology**. New York: Van Nostrand Reinhold Company, 1971. 245 p.
- ZAYATS, L.; ORLANDELLI, R. C.; PAMPHILE, J. A. Desenvolvimento de linhagem selvagem e transformante de *Fusarium verticillioides* endofítico após colonização em *Zea mays* L. **SaBios: Revista de Saúde e Biologia**, Campo Mourão, v. 6, n. 2, p. 27–34, mai./ago., 2011.

Recebido em: 06 de novembro de 2013
Aceito em: 25 de novembro de 2013